Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Paper
Vol. 15, No. 2, Summer 2023, p. 137-150

The Effect of Fat-Soluble Vitamins (A, D, E) and Flaxseed Oil on Blood Parameters and Immune System of Suckling Calves

Mehrdad Movahednasab[1], Abdolmansour Tahmasbi[2*], Seyed Alireza Vakili[2], Abbas Ali Naserian[2]

Received: 13-02-2022 Revised: 12-06-2022 Accepted: 03-07-2022 Available Online: 03-07-2022	**How to cite this article:** Movahednasab, M., Tahmasbi, A., Vakili, S. A., & Naserian, A. A. (2023). The effect of fat-soluble vitamins (A, D, E) and flaxseed oil on blood parameters and immune system of suckling calves. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *15*(2), 137-150. DOI: 10.22067/ijasr.2022.75288.1067

Introduction: One of the most important factors in the profitability of dairy farms is effective management methods in keeping and feeding infant calves. Several factors such as underdeveloped immune system and environmental stress can increase the survival power of the animal. Researchers suggest different factors can to improve the immune system of neonatal calves, including the use of fat-soluble vitamins and unsaturated fatty acids. While these vitamins play a major role in the immune system of animals, the supply of fat-soluble vitamins in the calf's diet is essential for promotion the normal growth of muscles and the skeleton of the body. Common symptoms of a deficiency in fat-soluble vitamins in neonatal calves include retardation of growth, and susceptibility to infectious diseases.

Materials and Methods: This experiment was performed in the farm of Ferdowsi University of Mashhad. Twenty-eight Holstein female calves with an average bodyweight of 37.74 kg (± 4.76) were used from birth to 56 days of age. On the fourth day, the calves were randomly assigned to one of four treatments. All calves received colostrum for the first 3 d and then whole milk at 8% of bodyweight in the two-equal part in the morning (4.00 A.M) and evening (16 P.M) until weaning. The experimental treatments included: 1) whole milk with starter (Control), 2) control diet supplemented with flax seed oil (0.3 ml per kilogram of body weight), 3) control diet and weekly injection of 7 cc of fat-soluble vitamins (A, D3, E), 4) control diet which supplemented with flaxseed oil (0.3 ml per kilogram of body weight) plus weekly injection of 7 cc of fat-soluble vitamins (A, D3, E). Flax seed oil was mixed into milk (morning feeding) until weaning. During the experiment period, calves had ad libitum access to starter diet and water. Blood sample were harvested from jugular vein for collection of full blood for Complete Blood Count (CBC) test and blood serum metabolites. Serum was stored in -20 centigrade until further analysis. Complete blood count (CBC) test was performed to determine the number of blood cells white blood cells, red blood cells, lymphocytes, monocytes, eosinophils, granulocytes, hemoglobin and hematocrit. Serum blood metabolites, total protein, creatinine, beta-hydroxybutyric acid, albumin, liver enzymes (alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase and alkaline phosphatase), antioxidant capacity (malondialdehyde and total antioxidant capacity) were analyzed using Alpha Classic autoanalyzer. Data were analyzed using SAS version 9.4 as a completely randomized design experiment. For all results, significant differences between treatments were declared at $P \leq 0.05$ and tendencies were declared at $0.05 < P \leq 0.10$. Least square means for each treatment are reported in the tables and were separated using Tukey-kramer test.

Results and Discussion: The results of this study showed that the use of flaxseed oil and injection of fat-soluble vitamins during preweaning had no significant effect on the Serum concentrations of total protein, creatinine, beta-hydroxybutyric acid, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase, malondialdehyde, total antioxidant capacity and had no significant effect on the starter feed intake, daily weight gain, rectal temperature of calves. Calves received flax seed oil and fat-soluble vitamins injection had the highest Red blood cells, White blood cells, Hematocrit, Lymphocytes, Monocytes, Eosinophils and hemoglobin

1- M.Sc. Student, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
2- Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
*Corresponding Author's Email: tahmasebi@ferdowsi.um.ac.ir

concentration. Claves received flaxseed oil and fat-soluble vitamins injection have the highest serum cholesterol concentration (P<0.00).

Conclusion: The results of this study indicated that inclusion of flaxseed oil and injection of fat-soluble vitamins (A, D, E) had no significant effect on blood serum parameters such as total protein, creatinine, albumin, beta-hydroxybutyric acid, malondialdehyde and total antioxidant capacity, but partially improved the immune system (white blood cells, monocytes, eosinophils) and reduces liver enzymes such as aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase, which indicates an increase in animal health.

Keywords: Blood parameters, Fat-soluble vitamins, Flaxseed oil, Holstein calves, Immune system

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۱۵، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۲، ص. ۱۵۰-۱۳۷

تأثیر ویتامین‌های محلول در چربی(D3 ,A و E) و روغن بذر کتان بر فراسنجه‌های خونی و سیستم ایمنی گوساله‌های شیرخوار

مهرداد موحدنسب[1]، عبدالمنصور طهماسبی[2]*، سید علیرضا وکیلی[2]، عباسعلی ناصریان[2]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۲۴
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۴/۱۲

چکیده

این آزمایش به‌منظور بررســی افزودن روغن کتان و ویتامین‌های محلول در چربی (D_3 ,A و E) بر ســیســتم ایمنی، آنزیم‌های کبدی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فراسنجه‌های خونی با استفاده از گوساله‌های شیرخوار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تیمارهای مورد آزمایش عبارتند از: ۱- شیر کامل همراه با خوراک آغازین (شاهد) ۲- جیره شاهد به همراه شیر مکمل شده با روغن کتان ۳- جیره شاهد و تزریق هفته‌ای هفت سی سی ویتامین محلول در چربی و ۴- جیره شاهد به همراه شیر مکمل شده با روغن کتان همراه تزریق هفته‌ای هفت سی‌سی ویتامین محلول در چربی. نتایج نشان داد که تیمارهای آزمایشی بر افزایش وزن، میزان مصرف خوراک، دمای رکتوم، میزان پروتئین تام، کراتینین، بتا هیدروکسی بوتیریک اسید، آلبومین، درصد لنفوسیت‌ها، درصد گرانولیست‌ها، آنزیم‌های کبدی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تأثیر معنی‌داری نداشت ($P > ۰/۰۵$)، درحالی‌که بیشترین سطح کلسترول در تیمار حاوی روغن کتان + ویتامین و کمترین در گروه شــاهد مشــاهده شــد. میزان گلبول‌های ســفید، گلبول‌های قرمز، درصــد هماتوکریت، درصــد مونو سیت‌ها، در صد ائوزینوفیل و هموگلوبین به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ($P < ۰/۰۵$). به‌طوری‌که مقدار گلبول‌های قرمز و هماتوکریت در تیمار حاوی روغن کتان + ویتامین بیشترین و در گروه شاهد کمترین مقدار دیده شد و بیشترین و کمترین میزان گلبول‌های سفید خون در تیمارهای حاوی روغن کتان + ویتامین و گروه شــاهد مشــاهده شــد. در تیمار حاوی روغن کتان+ ویتامین نســبت به ســایر تیمارها بیشــترین میزان هموگلوبین مشاهده شد. نتایج نشان داد که افزودن روغن کتان و ویتامین‌های محلول در چربی احتمالاً باعث بهبود سیستم ایمنی در گوساله‌ها می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: روغن بذر کتان، سیستم ایمنی، فراسنجه‌های خونی، گوساله شیرخوار هلشتاین، ویتامین‌های محلول در چربی

مقدمه

در صنعت دامپروری تولید گوساله‌های سالم جایگزین نقش مهمی در عملکرد اقتصادی واحد دامپروری خواهد داشت (Xu et al., 2021) . مدیریت و تغذیه صــحیح گوســاله‌های شــیرخوار می‌تواند در فرآیند سلامت و تندرستی گوساله‌های شیری و بهره‌وری کلی گله مؤثر واقع شود (Blakely et al., 2019). در مراحل اولیه زندگی گوساله، شکمبه توسعه کامل نیافته و حیوان قادر به مصرف خوراک جامد به‌مقدار کافی نیســت، لذا شــیر به‌عنوان مهمترین منبع غذایی که می‌تواند انرژی، پروتئین و ســایر مواد مغذی را برای گوســاله‌ها تأمین کند، مورد توجه قرار دارد (Delir et al., 2020). از طرفی، فقدان یا کمبود برخی از مواد مغذی و نیز مواد معدنی می‌تواند گوســاله را به چالش‌های متعدد مواجه کند و ســبب بروز مشــکلاتی در رشــد و ســلامتی گوســاله‌های شیرخوار شود (Delir et al., 2020). تغذیه گو ساله‌ها در طول دوره ابتدای زندگی می‌تواند تأثیر بسزایی در روند تولید و چرخه زندگی گله گاوهای شیری داشته باشد (Terler et al., 2022). عواملی همچون نوع و نژاد گاو، فصــل، میزان حجم تولیدی آغوز، رژیم غذایی مورد استفاده و نهایتاً مدیریت، بر ترکیبات شیر تأثیر می‌گذارد (Conneely;

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
۲- استاد، گروه علوم دامی ، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: tahmasebi@ferdowsi.um.ac.ir)

DOI: 10.22067/ijasr.2022.75288.1067

(McGeeet al., 2005 ; McGee et al., 2019 et al., 2013).
ویتامین‌ها بخشی از ترکیبات آلی بوده که به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم تأثیر زیادی بر سلامت و تندرستی بدن دارند. نحوه جذب، ذخیره و حذف ویتامین‌ها در بدن بسته به نوع محلول بودن آن‌ها در آب و یا چربی است (Ravisankar et al., 2015). ویتامین‌های محلول در چربی[1] (FSV) نقش‌های بیولوژیکی زیادی در حفظ سلامت بدن، عملکرد سیستم ایمنی (Rho and Kim., 2022)، عملکرد عضلات و همچنین سلامت چشم دارند (Ravisankar et al., 2015). بذر کتان حاوی بسیاری از ترکیبات زیست فعال از جمله آلفالینولئیک اسید (ALA) ، لیگنان، پروتئین، موسیلاژ، مواد معدنی، فیبرهای غذایی، ترکیبات فنلی و غیره است (Bechlin et al., 2019 ; Tang et al., 2021 ; Giarola et al.,2019) و به‌عنوان یک ماده غذایی مهم در نظر گرفته می‌شود. از طرفی، روغن بذر کتان به‌عنوان یکی از کاربردی‌ترین ترکیبات بذر کتان، که می‌تواند تأثیرات مثبتی مانند محافظت از قلب و عروق، ضد تومور، ضد التهاب، درمان دیابت و غیره بر سلامت داشته باشد (Tang et al,m 2021). سطح ALA در روغن بذر کتان بین ۴۸ تا ۶۲ درصد است (Bakowska-Barczak et al., 2020; Goyal et al., 2018). سایر ترکیبات موجود در روغن بذر کتان مانند ترکیبات فرار، ترکیبات فنلی، توکوفرول، فیتواسترول‌ها و غیره شناسایی شده‌اند (Tang et al,m 2021). همچنین اسیدهای چرب روغن بذر کتان عمدتاً از اسید لینولنیک، اسید لینولئیک، اسید اولئیک، اسید استئاریک و اسید پالمیتیک تشکیل شده است (Zhang et al., 2017). با توجه به تأثیر مهم ویتامین‌های محلول در چربی و همچنین روغن بذر کتان بر فرآیند متابولیسمی و سلامتی حیوان، هدف از انجام این مطالعه بررسی تأثیر انفرادی و تجمعی روغن کتان و ویتامین‌های محلول در چربی (A، D و E) بر سیستم ایمنی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فراسنجه‌های خونی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در مرکز تحقیقات گاوهای شیری دانشگاه فردوسی مشهد در تیر ماه سال ۱۳۹۹ انجام شد. جهت اجرای این مطالعه از ۲۸ رأس گوساله ماده هلشتاین سه روزه با میانگین وزنی (۴/۸±) ۳۷/۷ کیلوگرم استفاده شد. گوساله تا سن ۵۶ روزگی (زمان قطع شیر) تحت تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و هفت تکرار اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- شیر کامل همراه با خوراک آغازین (شاهد) ۲- جیره شاهد به همراه شیر مکمل شده با روغن بذرکتان به‌صورت گاواژه دهانی (۰/۳ میلی‌لیتر به‌ازای هر کیلو وزن بدن) (تغذیه و وارد کردن مایعات غذایی از راه دهانی)، ۳- جیره شاهد و تزریق هفته‌ای هفت سی‌سی ویتامین محلول در چربی (A, D3, E) ۴- جیره شاهد به همراه شیر مکمل شده با روغن بذر کتان به‌صورت گاواژه (۰/۳ میلی‌لیتر به‌ازای هر کیلو وزن بدن) و تزریق هفته‌ای هفت سی‌سی ویتامین محلول در چربی بود.

گوساله‌های تازه متولد شده بعد از ۳۰ دقیقه، از مادر جدا و به قفس‌های انفرادی دارای بستر کاه منتقل شدند. در یک ساعت اول بعد از زایمان به تمامی گوساله‌ها چهار لیتر کلستروم داده شد. قفس‌ها هر روز تمیز و هر هفته بستر آن‌ها به‌صورت کامل تخلیه و تعویض می‌گردید. در سن چهار روزگی (تغذیه با کلستروم)، گوساله تحت تیمار آزمایشی قرار گرفتند و در طی دوره آزمایش دسترسی آزاد به مخلوط یونجه و استارتر (با نسبت‌های ۳ به ۹۷) و آب تازه داشتند. همچنین روزانه چهار لیتر شیر کامل با استفاده از سطل در دو وعده در ساعات پنج صبح و ۱۷ بعد از ظهر در اختیار آنان قرار می‌گرفت. شاخ سوزی با استفاده از پماد شاخ سوز بین ساعات ۱۰ تا ۱۳ در فاصله دو تا سه هفتگی عمر صورت گرفت. مصرف خوراک، افزایش وزن و دمای رکتوم حیوانات هر دو هفته مورد ارزیابی قرار می‌گرفت و ثبت می‌شد.

از محلول ویتامینی استریل تزریقی آدویت شرکت رازک (حاوی ماده مؤثره در هر میلی‌لیتر محلول شامل: Vitamin A ۵۰۰۰۰ IU، Vitamin D3۱۰۰۰۰ IU، Vitamin E ۲۰ mg) برای اجرای آزمایش استفاده شد. اقلام و ترکیبات شیمیایی جیره پایه در جدول ۱ و ترکیب اسیدهای چرب روغن کتان در جدول ۲ نشان داده شده است.

فراسنجه‌های اندازه گیری شده

خون‌گیری در روزهای ۱، ۱۴، ۲۸ و ۵۶ قبل از تغذیه شیر وعده صبح، به‌وسیله سرنگ از سیاهرگ وداج گوساله‌ها انجام شد و سپس خون به داخل لوله‌های حاوی ماده ضدانعقاد (K3-EDTA) ریخته و به آزمایشگاه انتقال یافت. تست CBC برای تعیین تعداد سلول‌های خونی (گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها، ائوزینوفیل، گرانولوسیت، هموگلوبین و هماتوکریت) در آزمایشگاه صورت گرفت. به‌منظور تعیین فراسنجه‌های خونی (بتا هیدروکسی بوتیریک اسید، کلسترول، پروتئین تام، آلبومین و کراتین) و آنزیم‌های کبدی (آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP)) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (مالون دی‌آلدهید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام) از سرم تهیه شده استفاده گردید. به‌منظور تهیه سرم ، نمونه‌های خونی به لوله‌های استریل لخته ساز منتقل و پس از لخته شدن در درجه حرارت اتاق، سانتریفوژ (به‌مدت ۱۵ دقیقه، با دور ۳۰۰۰ در دقیقه (۱۵۰۹ xg)) گردید و سرم آن ها جمع‌آوری و در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد به‌منظور

1- Fat soluble vitamins

آزمایشات بعدی نگهداری شد.

جدول ۱– اقلام تشکیل‌دهنده و ترکیبات شیمیایی جیره آغازین آزمایش

Table 1- Ingredients and chemical compounds of the initial test diet

اقلام خوراکی Ingredients (%DM)	
ذرت آسیاب شده Ground corn	45
جو آسیاب شده Milled barley	15
کنجاله سویا Soybean meal	29
سبوس گندم Wheat bran	9
مکمل ویتامینی Mineral-vitamin premix	1
سنگ آهک Limestone	1
ترکیب شیمیایی **Chemical composition**	
(٪)پروتئین خام Crude protein (%)	20.1
(٪)ماده خشک Dry mater (%)	90.5
کربوهیدرات های غیر الیافی[۱] (NFC)	57.7
(٪)عصاره اتری Ether extract (EE)(%)	3.1
(٪) فسفر Phosphorus (%)	0.6
(٪) کلسیم Calcium (%)	0.7
(٪) خاکستر Ash (%)	5.29
(٪) ماده آلی Organic matter (%)	94.71
(٪) فیبر نامحلول در شوینده خنثی Neutral detergent fiber (%)	57.7
(٪) فیبر نامحلول در شوینده اسیدی Acid detergent fiber (%)	6.9

اقلام تشـــکیل‌دهنده مکمل ویتامینی در جیره آغازین: ویتامین D3 (IU/Kg) 300000، ویتامین E (IU/Kg) 3000، کلسـیم (mg/kg) 7011، فسـفر (mg/kg) 30000، منیزیم (mg/kg) 20700، سـدیم (mg/kg) 40000، منگنز (mg/kg) 5000، روی (mg/kg)10000 ، مس (mg/kg) 3000، سـلنیوم (mg/kg) 100، ید (mg/kg) 120، سلنیوم آلی (mg/kg) 2، کبالت (mg/kg) 100، آنتی‌اکسیدان (mg/kg) 1000 .

Vitamin supplement components in the initial diet: vitamin D3 (IU/Kg) 300000, vitamin E (IU/Kg) 3000, calcium (mg/kg) 7011, phosphorus (mg/kg) 30000, magnesium (mg/kg) 20700, Sodium (mg/kg) 40000, manganese (mg/kg) 5000, zinc (mg/kg) 10000, copper (mg/kg) 3000, selenium (mg/kg) 100, iodine (mg/kg) 120, organic selenium (mg/kg) 2, cobalt (mg/kg) 100, antioxidant (mg/kg) 1000.

[1]Non fiber carbohydrate = NFC=100-(CP%+EE%+Ash%+(NDF%-NDIP)

به‌منظور تعیین فراسنجه‌های خونی از کیت‌های شرکت پارس آزمون و رندکس، با دستگاه اتوآنالایزر مدل Alpha Classic و طبق دستورالعمل کارخانه سازنده، استفاده شد. تجزیه‌وتحلیل داده‌های آماری در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SAS ۹/۴ و به‌روش GLM آنالیز شد و میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون توکی – کرامر در سطح آماری ۹۵ درصد مقایسه گردید.

جدول ۲- ترکیب اسیدهای چرب روغن بذر کتان (٪ از کل اسیدهای چرب) (۲۶)

Table 2 - Fatty acid profile of flaxseed oil (% of total fatty acids)

اسیدهای چرب Fatty acids	
C16:0	7.05
C18:0	4.23
Total SFA	11.28
Total MUFA	26.85
Total PUFA	61.86

نتایج و بحث

همان‌طور که در جداول ۳، ۴ و ۵ مشاهده می‌شود، مصرف خوراک، افزایش وزن و دمای رکتوم تحت تأثیر تیمارهای مورد آزمایش قرار نگرفت، داده‌های به‌دست آمده همسو با نتایج گزارش شده با سایر محققین می‌باشد (Hill et al.,2011; Kadkhoday et al., 2017). درحالی‌که کریمی و همکاران (Karimi et al., 2021) تأثیر معنی‌داری در استارتر مصرفی گوساله‌های شیرخوار تغذیه شده با منابع مختلف چربی گزارش کردند. مطالعات نشان می‌دهد که خوراک مصرفی می‌تواند متأثر از سن، میزان چربی کل جیره، نوع چربی و نسبت اسیدهای چرب غیر اشباع به اشباع جیره باشد (Doppenberg and Palmquist., 1991; Ghorbani et al., 2020; Hill et al., 2011).

محققین گزارش نمودند که افزودن اسیدهای چرب غیر اشباع C18:2 و C18:3 در خوراک گوساله‌ها شیرخوار تأثیر معنی‌داری بر افزایش وزن ندا شته ا ست (Kadkhoday et al., 2017) حال آن که گو ساله‌های تغذیه شده با نمک‌های کلسیمی روغن کتان وزن نهایی بیشتری را نشان دادند (Thiessen et al., 2004). این تفاوت در نتیجه، ممکن است به‌دلیل، مصرفی ویتامین و یا شرایط آزمایش باشد. از طرفی، محققین بیان کردند که استفاده از روغن های C18:3 (لینولنیک اسید) در جیره‌های استارتر گو ساله‌های شیرخوار منجر به بالا رفتن افزایش وزن می‌گردد (Garcia et al., 2015; Hill et al., 2009).

افزودن چربی به‌ویژه اسیدهای چرب تأثیری بر دمای رکتوم ندا شته ا ست که هم سو با نتایج به‌د ست آمده از آمار شات سایر محققین می‌باشد (Ghorbani et al., 2020; Hill et al., 2011).

دمای رکتوم به‌منظور تعیین سلامتی حیوان، که نشان‌دهنده بیماری‌هایی همچون اسهال، نفخ، سرماخوردگی، افسردگی و کاهش اشتها است، تعیین می‌گردد. در گوساله‌هایی که دمای رکتوم آن‌ها بیش از ۳۹/۵ درجه سلسیوس باشد، به‌عنوان گوساله‌های تب‌دار شناسایی می‌گردند. همانگونه که در جدول ۵ مشخص است، دمای رکتوم تمامی گو ساله زیر ۳۹ درجه می‌باشد که در دامنه طبیعی درجه حرارت گوساله سالم (۳۸-۳۹ درجه سلیسیوس) می‌باشد.

اثر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های خونی گوساله‌های شیرخوار در جدول ۶ گزارش شده است. با توجه به نتایج به‌دست آمده، سطح پروتئین تام، کراتینین، بتا هیدروکسی بوتیریک اسید و آلبومین تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (P >۰/۰۵). درحالی‌که سطح کلسترول خون گوساله‌های شیری به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت (P <۰/۰۵)، به‌طوری‌که بیشترین مقدار کلسترول در تیمار حاوی روغن کتان + ویتامین و کمترین آن در گروه شاهد و حاوی ویتامین مشاهده شد.

جدول ۳- اثر تیمارهای آزمایشی بر میانگین مصرف خوراک گوساله‌ها در طول آزمایش (گرم در روز)

Table 3- The effect of experimental treatments on the average feed intake of calves during the experiment (g/day)

	تیمارهای آزمایشی					
	شاهد Control	روغن کتان Flax seed oil	ویتامین Vitamin	روغن کتان + ویتامین Flax seed oil + vitamin	SEM[1]	P value[2]
دو هفته اول (g/day) The first two weeks	63.0	59.8	62.3	60.2	4.507	0.949
دو هفته دوم (g/day) The second two weeks	274.4	274.7	300.9	255.8	27.880	0.426
دو هفته سوم (g/day) The third two weeks	430.1	415.2	446.9	398.8	15.050	0.163
دو هفته چهارم (g/day) The fourth two weeks	932.7	929.4	953.7	923.3	8.353	0.084

[۱]میانگین خطای استاندارد

[۲]سطح احتمال معنی دار شدن P=۰/۰۵

[1]Standard error of mean

[2]Probability value p= 0.05

جدول ٤- اثر تیمارهای آزمایشی بر افزایش وزن روزانه گوساله‌ها در طول آزمایش (گرم در روز)

Table 4- The effect of experimental treatments on daily weight gain of calves during the experiment (g / day)

	تیمارهای آزمایشی					
	شاهد Control	روغن کتان Flax seed oil	ویتامین Vitamin	روغن کتان + ویتامین Flax seed oil + vitamin	SEM[1]	P value[2]
دو هفته اول (g/day) The first two weeks	138.8	153.1	188.8	133.7	34.67	0.671
دو هفته دوم (g/day) The second two weeks	425.5	406.1	419.4	423.5	71.46	0.997
دو هفته سوم (g/day) The third two weeks	565.3	654.1	629.6	576.5	73.98	0.805
دو هفته چهارم (g/day) The fourth two weeks	644.9	673.5	734.7	736.7	62.03	0.658

[۱]میانگین خطای استاندارد

[۲]سطح احتمال معنی دار شدن P=۰/۰۵

[1]Standard error of mean

[2]Probability value p= 0.05

جدول ۵- اثر تیمارهای آزمایشی بر میانگین دمای رکتوم گوساله‌ها در طول آزمایش (درجه سانتی‌گراد)

Table 5-The effect of experimental treatments on the average rectal temperature of calves during the experiment (° C)

	تیمارهای آزمایشی					
	شاهد Control	روغن کتان Flax seed oil	ویتامین Vitamin	روغن کتان + ویتامین Flax seed oil + vitamin	SEM[1]	P value[2]
دو هفته اول (g/day) The first two weeks	38.71	38.69	38.86	38.87	0.143	0.724
دو هفته دوم (g/day) The second two weeks	38.63	38.70	38.57	38.64	0.144	0.940
دو هفته سوم (g/day) The third two weeks	38.54	38.73	38.47	38.66	0.101	0.306
دو هفته چهارم (g/day) The fourth two weeks	38.49	38.53	38.63	38.77	0.163	0.620

[۱]میانگین خطای استاندارد

[۲]سطح احتمال معنی دار شدن P=۰/۰۵

[1]Standard error of mean

[2]Probability value p= 0.05

تحقیقات نشان داد که افزودن ویتامین محلول در چربی (ویتامین E) به همراه سلنیوم در جیره گوساله‌های نر شیرخوار هلشتاین بر پروتئین کل و آلبومین تأثیر معنی‌داری نداشت (Asadi et al., 2021). روند تغییرات علظت کلسترول در دوره‌های مختلف در نمودار شماره ۱ آورده شده است.در مطالعه دیگری محققین با بررسی اثرات مکمل روغن بذر کتان به‌عنوان منبع اسیدهای چرب امگا ۳ بر روی گاو نر فریزین نشان دادند که سطح سرمی آلبومین در حیوانات دریافت‌کننده مکمل روغن بذر کتان تفاوتی معنی‌داری با شاهد نداشت (Abu El-Hamd et al., 2019). به‌علاوه اسیدلینولئیک و ویتامین C تأثیر معنی‌داری بر پروتئین کل و آلبومین گوساله هلشتاین تازه متولد شده در سن یک تا هشت روز نداشته است (Ramezani et al., 2018). با توجه به اینکه مصرف اسید چرب با چند پیوند دوگانه، نقش مهمی در استریفه کردن استرهای کلسترول دارد، میزان کلسترول افزایش پیدا می‌کند. همسو با این آزمایش، برخی از محققین در آزمایشات خود نشان دادند که افزودن اسیدهای چرب غیرا شباع منجر به افزایش کلسترول خون گوساله‌ها شده است (Huuskonen et al., 2005; Ivan et al., 2013).

همچنین در تحقیق دیگری گزارش شد که ویتامین E و مکمل سلنیوم غلظت کلسترول سرم گاوهای هلشتاین- فریزین (HF) را به‌طور قابل توجهی بالاتر برد (Sobiech et al., 2015). بر خلاف نتایج این آزمایش، آهنگرانی و همکاران (Ahangarani et al., 2021) بیان کردند، افزودن روغن دانه کتان به شیر گوساله‌های ماده هلشتاین در ماه اول بعد از تولد باعث کاهش کلسترول خون نسبت به شاهد شده است (Ahangarani et al., 2021). افزودن ۰/۲ میلی‌لیتر در کیلوگرم وزن بدن روغن کتان به شیر گوساله‌ها سبب افزایش معنی‌دار غلظت کل پروتئین، آلبومین و گلوبولین در پلاسما و کاهش معنی‌دار غلظت کل لیپیدها و گردید (El-Hamd et al., 2015). به‌علاوه افزودن مکمل روغن بذر کتان باعث کاهش معنی‌دار سطح

کلسترول تام در گاوهای نر دریافت‌کننده مکمل نسبت به گروه شاهد شد و همچنین روغن بذر کتان اثر معنی‌داری بر سطوح سرمی پروتئین کل، گلوبولین، گلوکز، لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL) و تری گلیسیرید در حیوانات دریافت‌کننده این روغن در مقایسه با گروه شاهد شــد (۱). می‌توان چنین بیان کرد که تفاوت نتیجه این مطالعه‌ای با یافته‌های دیگر (افزایش کلسترول سرمی گوساله‌های مورد آزمایش) ممکن است به‌دلیل وجود ۹۶ درصد تری‌آسیل گلیسرید (TAG)، ۱/۴ درصـــد لیپید قطبی، گلیکو و فســـفولیپید در روغن بذر کتان باشـــد (Dunford., 2015).

متابولیسم کلسترول به دو مسیر برون‌زایی و درون‌زایی تقسیم می‌شود. در مسیر درون‌زایی، کلسترول توسط سلول کبد و بافت‌های خارج کبدی ســـنتز می‌شـــود و به‌عنوان جزئی از لیپوپروتئین‌ها وارد گردش خون می شود یا به صفرا ترشح می شود. در مسیر اگزوژن یا برون‌زایی، کلسترول از منابع غذایی و صفراوی در روده جذب شده و در نهایت، وارد گردش خون می‌شـــود. نقش دو اســـید چرب امگا ۳ ایکوزاپنتانوئیک اســید (EPA) و دوکوزاهگزانوئیک اســید (DHA) در تجزیه آپوپروتئین‌ها به‌ویژه آپوپروتئین B-100 کاملاً به اثبات رسـیده است.

تناقض در نتایج به¬دست آمده از گزارشات مختلف نشان‌دهنده عدم نتیجه‌گیری خاص در خصـــوص متابولیســـم کلســـترول و لیپو پروتئین ها می‌باشـــد. با توجه به این واقعیت که متابولیســـم هر لیپوپروتئین (VLDL، LDL و HDL) و نیز کلســـترول و اســـیدهای صفراوی، متاثر از شرایط فیزیولوژیکی، ژنتیکی و تغذیه‌ای قرار دارد و در حیوانات مختلف متفاوت است، لذا چنانچه پاسخ متفاوت برای این ترکیبات حادث گردد، ممکن اســـت متأثر از رژیم غذایی و نســـبت متفاوت اسیدهای چرب در این‌گونه مواد خوراکی باشد. از طرفی، بیان می‌شود مصرف اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه به‌دلیل نقش آن‌ها در استریفیکاسیون استرهای کلسترول، باعث افزایش میزان کلسترول خون می شود. گزارش گردیده است که روغن‌های مانند کتان و سویا به‌دلیل تأثیرات مثبتی که بر روی بهبود فعالیت ســـلول‌های کبدی دارند، باعث افزایش در سنتز آلبومین در خون می‌شوند (Ahangarani et al., 2021). مشخص گردیده است که کم بودن نسبت پروتئین تام به آلبومین نشـــان‌دهنده کاهش اثرات عوامل اســـترس‌زا اســـت، پس می‌توان نتیجه گرفت که اســـید لینولنیک با کم کردن نســـبت این دو فراسنجه خونی باعث کاهش استرس و بهبود سیستم ایمنی خواهد شد (Ramezani et al., 2018). روند تغییرات بتا هیروکسی بوترات در زمان‌های مختلف در نمودار ۲ گزارش شده است.

اثر تیمارهای آزمایشی بر آنزیم‌های کبدی گوساله‌های شیرخوار در جدول ۷ و نمودارها ۳ و ۴ گزارش شـــده اســـت. با توجه به نتایج به‌دســـت آمده، تأثیر معنی‌دار تیمارهای آزمایشـــی بر آنزیم‌های کبدی (آلانین امینو ترانســـفراز (ALT)، آسـپارتات آمینوترانسـفراز (AST) و آلکالین فســـفاتاز (ALP)) گوســـاله‌های شـــیرخوار مشـــاهده نمی‌شـــود (P >۰/۰۵).

جدول ٦- اثر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های خونی گوساله‌های شیرخوار

Table 6- The effect of experimental treatments on blood parameters of suckling calves

	تیمار Treatment				SEM[1]	P value[2]
	شاهد Control	روغن کتان Flax seed oil	ویتامین Vitamin	روغن کتان + ویتامین Flax seed oil + vitamin		
کلسترول (mg/dl) Cholesterol (mg/dl)	84.43[b]	97.13[ab]	91.65[b]	109.83[a]	4.503	0.00
پروتئین تام (g/dl) Total protein (g/dl)	5.66	5.77	5.42	5.45	0.117	0.10
کراتینین (mg/dl) Creatinine (mg/dl)	1.17	1.14	1.15	1.16	0.062	0.98
بتا هیدروکسی بوتیریک اسید (nmol/l) Beta-hydroxybutyric acid (nmol/l)	0.17	0.16	0.16	0.18	0.017	0.77
آلبومین (g/dl) Albumin (g/dl)	3.38	3.35	3.26	3.29	0.042	0.199

a و b تفاوت ارقام در هر ردیف با حروف نامشابه معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

[۱] میانگین خطای استاندارد

[۲] سطح احتمال معنی دار شدن P=۰/۰۵

b and a, the difference between numbers in each row with dissimilar letters is significant (P<0.05).

[1] Standard error of mean

[2] Probability value p= 0.05

عدم تأثیر روغن بذر کتان و به‌عبارتی اسیدهای چرب امگا ۳ بر آنزیم‌های کبدی در آزمایشات متعددی گزارش گردیده است (El-Hamd et al., 2015; Nazir et al., 2013).

در مطالعه دیگری بیان شد که افزودن روغن کتان و ماهی به نسبت ۱:۱ به‌عنوان منبع اسیدهای چرب n-3 به آغوز گوساله نر و ماده هلشتاین تأثیری بر فعالیت آنتی اکسیدانی نخواهد داشت (Opgenorth et al., 2020). مرادیان و همکاران (Moradian et al., 2016) در مطالعه خود که تزریق ویتامین های E (۳۰۰ واحد بین‌المللی) و A (۲۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی) به گوساله های ماده هلشتاین نر بود، تأثیر معنی‌داری بر میزان آنزیم AST تأثیر مشاهده نکردند (Moradian et al., 2016). اومور و همکاران (Omur et al., 2016) نیز بیان کردند که ویتامین‌های محلول در چربی (A، E و D) و عناصر کمیاب (مس، منگنز، سلنیوم و روی) در جیره گاوهای براون سوییس تأثیر معنی‌داری بر آنزیم‌های کبدی (AST, ALT و ALP) نداشت (Omur et al., 2016).

جدول ۷- اثر تیمارهای آزمایشی بر آنزیم‌های کبدی گوساله‌های شیرخوار

Table 7- The effect of experimental treatments on liver enzymes in suckling calves

	تیمار Treatment				SEM[1]	P value[2]
	شاهد Control	روغن کتان Flax seed oil	ویتامین Vitamin	روغن کتان + ویتامین Flaxseed oil + vitamin		
اسپارتات ترانس آمیناز (u/l) Spartate transaminase (u/l)	66.30	68.96	67.74	60.74	3.213	0.288
آلانین آمینوترانسفراز (u/l) alanine aminotransferase (u/l)	16.13	20.39	16.61	15.26	1.384	0.052
آلکالین فسفاتاز (u/l) alkaline phosphatase (u/l)	469.50	515.00	456.80	456.70	32.62	0.543

[۱] میانگین خطای استاندارد

[۲] سطح احتمال معنی دار شدن P=۰/۰۵

[1]Standard error of mean

[2]Probability value p= 0.05

اثر تیمارهای آزمایشی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گوساله‌های شیرخوار در جدول ۸ گزارش شده است. نتایج نشان داد که تیمارهای آزمایشی بر میزان مالون دی‌آلدهید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی تام گوساله‌های شیرخوار تأثیر معنی‌داری نداشت (P >۰/۰۵).

جدول ۸- اثر تیمارهای آزمایشی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گوساله‌های شیرخوار

Table 8- The effect of experimental treatments on the antioxidant activity of infant calves

	تیمار Treatment				SEM[1]	P value[2]
	شاهد Control	روغن کتان Flax seed oil	ویتامین Vitamin	روغن کتان + ویتامین Flaxseed oil + vitamin		
مالون دی آلدهید (nmol/ml) Malondialdehyde (nmol/ml)	2.048	1.974	1.965	2.335	0.1594	0.320
ظرفیت آنتی اکسیدانتی تام (mmol/l) Total antioxidant capacity (mmol/l)	0.539	0.549	0.504	0.528	0.0148	0.181

[۱] میانگین خطای استاندارد

[۲] سطح احتمال معنی دار شدن P=۰/۰۵

[1]Standard error of mean

[2]Probability value p= 0.05

اثر تیمارهای آزمایشی بر سیستم ایمنی گوساله‌های شیرخوار در جدول ۹ و نمودارهای ۵ و۶ گزارش شده است. با توجه به نتایج به دست آمده، درصد لنفوسیت‌ها و گرانولیست‌های پلاسمای خون گوساله‌های شیرخوار تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (P >۰/۰۵)، امّا میزان گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، درصد هماتوکریت، درصد مونوسیت‌ها، درصد ائوزیوفیل و هموگلوبین

گوساله‌های شیرخوار به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت (P <۰/۰۵). مقدار گلبول‌های قرمز و هماتوکریت در تیمار حاوی روغن کتان + ویتامین بیشترین و در گروه شاهد و تیمار حاوی روغن کتان کمترین میزان را دارا بودن و تعداد گلبول‌های سفید نیز در تیمارهای حاوی روغن کتان + ویتامین و ویتامین بیشترین و در گروه شـــاهد و تیمار حاوی روغن کتان کمترین مشـــاهده شـــد. درصـــد مونوســـیت‌ها به‌ترتیب در گروه شـــاهد و تیمار حاوی روغن کتان + ویتامین کمترین و بیشترین میزان را نشان دادند. درصد ائوزینوفیل در گروه شاهد کمترین و تیمارهای حاوی روغن کتان + ویتامین و روغن کتان بیشـــترین میزان را به خود اختصـــاص دادند. همچنین در تیمار حاوی روغن کتان + ویتامین بیشـــترین میزان هموگلوبین نســـبت به تیمارهای دیگر قابل مشاهده بود.

جدول ۹– اثر تیمارهای آزمایشی بر سیستم ایمنی گوساله‌های شیرخوار

Table 9- The effect of experimental treatments on the immune system of infant calves

	تیمار Treatment				SEM[1]	P value[2]
	شاهد Control	روغن کتان Flax seed oil	ویتامین Vitamin	روغن کتان + ویتامین Flaxseed oil + vitamin		
گلبول های قرمز خون[۳] (10^6/ µl) RBC (10^6/ µl)	6.221[b]	6.300[b]	6.531[ab]	6.885[a]	0.1216	0.001
گلبول های سفید خون[۴] (10^3/ µl) WBC (10^3/ µl)	8.025[b]	8.043[b]	8.677[a]	9.152[a]	0.1647	0.000
هماتوکریت[۵] (%) HCT (%)	30.61[b]	31.24[b]	31.99[ab]	34.20[a]	0.6760	0.002
لنفوسیت‌ها (٪) Lymphocytes (%)	48.69	50.37	51.14	50.54	0.7362	0.114
مونوسیت‌ها (٪) Monocytes (%)	4.857[c]	6.029[ab]	5.314[bc]	6.543[a]	0.2252	0.000
ائوزینوفیل (٪) Eosinophils (%)	3.474[b]	4.629[a]	4.257[ab]	4.657[a]	0.2186	0.000
گرانولوسیت (٪) Granulocytes (%)	38.37	37.61	39.26	39.23	0.8126	0.425
هموگلوبین (g/dl) Hemoglobin (g/dl)	9.582[b]	9.797[b]	10.121[b]	10.890[a]	0.1822	0.000

a، b میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند (p<۰/۰۵)

[۱] میانگین خطای استاندارد

[۲] سطح احتمال معنی دار شدن P=۰/۰۵

[۳] گلبول های قرمز خون

[۴] گلبول های سفید خون

[۵] هماتوکریت

a, b Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).

[1] Standard error of mean

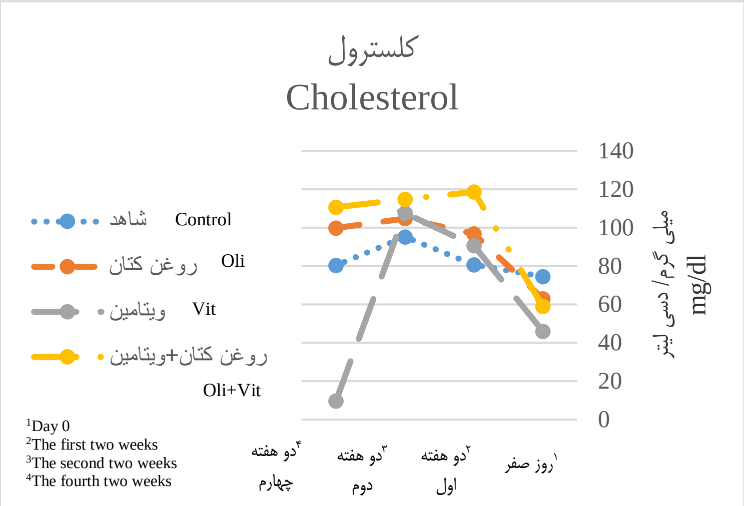
[2] Probability value p= 0.05

[3] Red Blood Cell

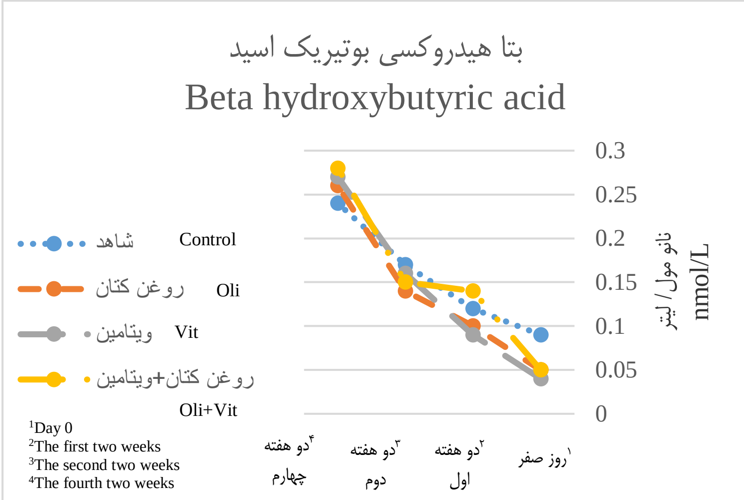
[4] White Blood Cell

[5] Hematocrit

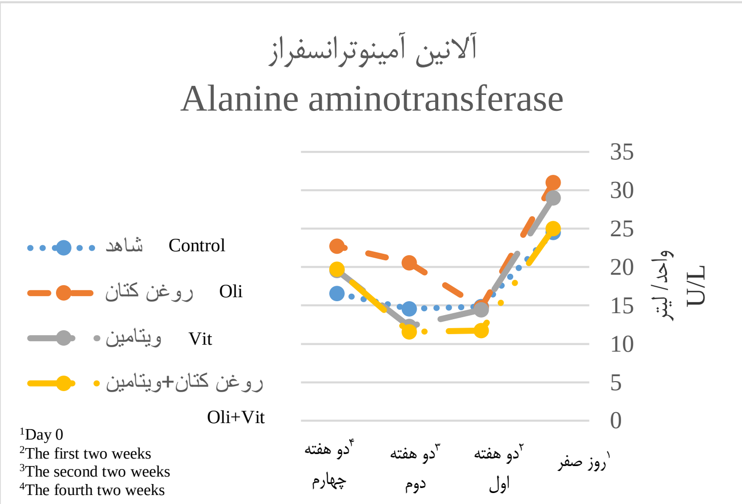
در شیر غلظت برخی از مینرال‌ها و ویتامین‌های ضروری محلول در چربی A، D و E کم بوده و ضـروری به نظر می‌رسـد که این مواد به شـیر مورد اسـتفاده حیوان افزوده شـود (Blakely et al., 2019). ثابت شده ا ست که ویتامین‌های محلول در چربی A، D و E به ر شد و نمو، و ایمنی گو ساله‌های شیری کمک می‌کنند (Lashkari et al 2021; Weiss., 2017).



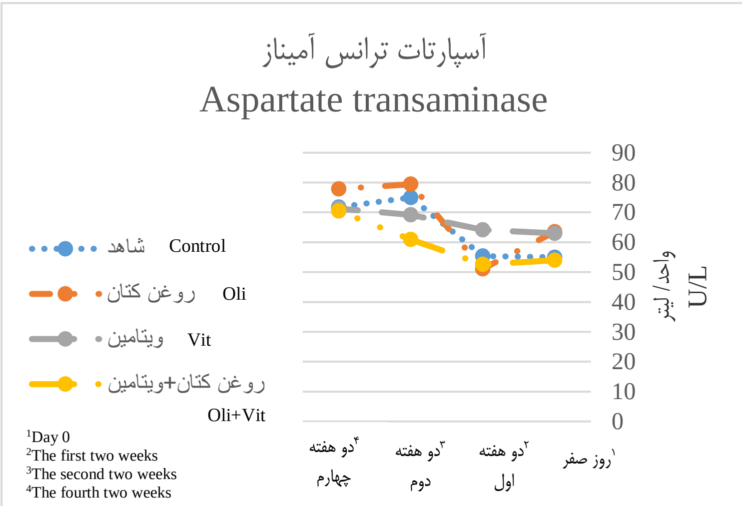
شکل ۱– میانگین تغییرات کلسترول خونی گوساله‌ها در دوره‌های مختلف
Figure 1- Average blood cholesterol changes of calves in different periods



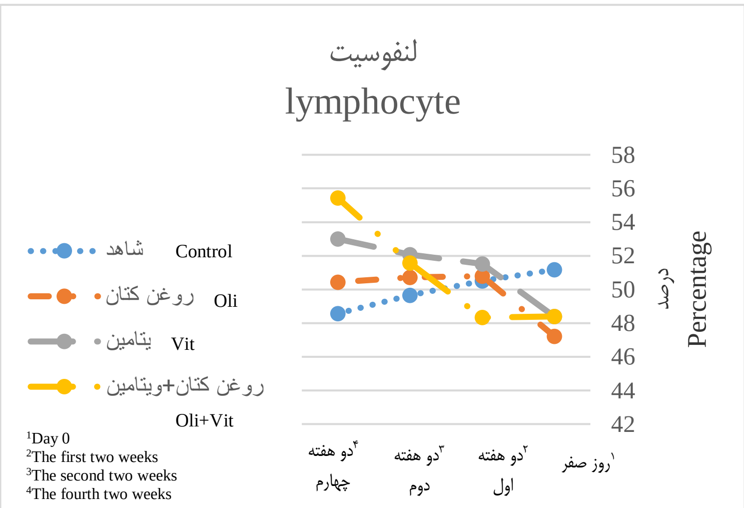
شکل ۲– میانگین تغییرات بتا هیدروکسی بوتیریک اسید خونی گوساله ها در دوره‌های مختلف
Figure 2- The average changes of beta-hydroxybutyric acid in the blood of calves in different periods



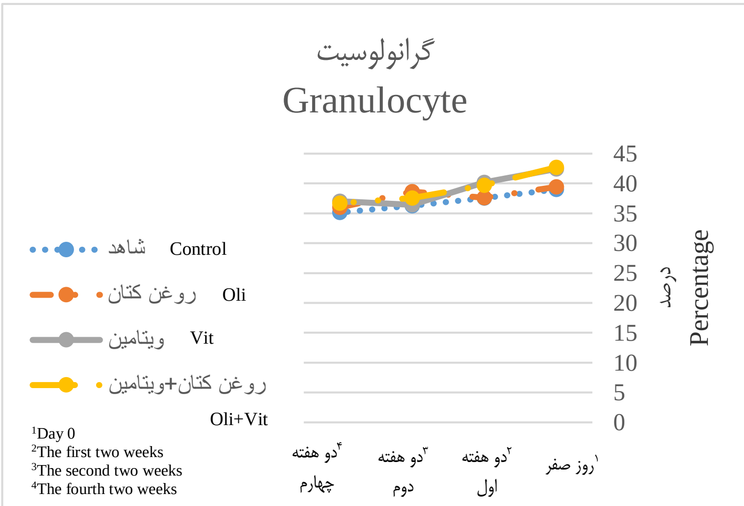
شکل ۳– میانگین تغییرات آلانین آمینوترانسفراز خونی گوساله‌ها در دوره‌های مختلف
Figure 3- Average changes of blood alanine aminotransferase of calves in different periods



شکل ٤– میانگین تغییرات آسپارتات ترانس آمیناز خونی گوساله‌ها در دوره‌های مختلف
Figure 4- The average changes of blood aspartate transaminase of calves in different periods



شکل ۵– میانگین تغییرات لنفوسیت خونی گوساله‌ها در دوره‌های مختلف
Figure 5- The average changes of blood lymphocytes of calves in different periods



شکل ٦– میانگین تغییرات گرانولوسیت خونی گوساله‌ها در دوره‌های مختلف
Figure 6- The average changes of blood granulocytes of calves in different periods

با توجه به ترکیبات بسیار با ارزش روغن بذر کتان، این ماده نیز می‌تواند سبب بهبود سلامتی و عملکرد سیستم ایمنی گردد (Elgaml et al., 2020). مطابق با نتایج این آزمایش، در مطالعه انجام شده توسط مهری و همکاران (Mohri et al., 2005) گزارش شده است که تزریق ویتامین E و سلنیوم بر روی گوساله‌ها در سن ۱ تا ۱۴ روز بعد از تولد سبب افزایش معنی‌داری در تعداد گلبول های سفید، هماتوکریت در هفته چهارم و هموگلوبین در هفته سوم گردیده است (Mohri et al., 2005). در پژوهش دیگری بیان شد که افزودن روغن کتان و ویتامین محلول در چربی (E) به شیر گوساله های شیرخوار ماده هلشتاین در سن چهار روزگی سبب بهبود سیستم ایمنی در دوره قبل و بعد از شیرگیری شد (Geraili et al., 2018). افزودن روغن کتان به‌میزان ۰/۲ میلی‌لیتر در کیلوگرم میانگین وزن بدن به شیر گوساله‌های تازه متولد شده تا زمان از شیرگیری نژاد فریزین سبب افزایش معنی‌دار تعداد گلبول های قرمز و سفید، درصد مونو سیت‌ها، نوتروفیل‌ها و غلظت هموگلوبین شد، امّا بر مقدار در صد لنفوسیت‌ها تأثیر معنی‌داری نداشت (El-Hamd et al., 2015). یکی از دلایل احتمالی بهبود در سیستم ایمنی ممکن است به‌دلیل وجود ترکیبات فنلی همچون اسید فنولیک، لیگنان‌ها و ترکیبات فلانوئیدی می‌باشد(Tang et al., 2021) از طرفی، وجود مقادیر زیاد از اسیدهای چرب امگا ۳ در دانه کتان نیز می‌تواند بر سیستم ایمنی حیوان تأثیرگذار باشد.

ویتامین E به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی محسوب می‌گردد (Agustinho et al., 2020). ایکوزانوئیدها ترکیبات شبه هورمونی هستند که نقش اساسی در پاسخ ایمنی دارند (El-Hamd et al., 2015) با توجه به غلظت بالای آلفالینولنیک اسید در روغن بذر کتان (Elgaml et al., 2020) و اینکه این اسید به‌عنوان پیش‌ساز ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA) مورد استفاده قرار می‌گیرد، و این اسید که خود از نوع اسیدهای چرب امگا ۳ محسوب می شود، به نوبه خود به‌عنوان پیش‌ساز اغلب ایکوزانوئیدها است.

مصرف روغن کتان به‌دلیل بالا بودن آلفا لینولیئک می‌تواند در این راستا نقش ویژه‌ای را ایفا نماید. از طرفی، ویتامین E، با نقش خود در جلوگیری از تخریب اکسیداتیو ممبران سلولی و ارگانل‌های درون آن مثل میتوکندری ها، میکروزوم ها و لیزوزوم ها، تأثیر بسزایی در بهبود سیستم ایمنی داشته باشند و همان‌گونه ردی و همکاران (Reddy et al., 1987) گزارش نموده‌اند، افزودن ویتامین E منجر به افزایش تعداد سلول‌های T و B در خون می‌شود و در نتیجه، بهبود سیستم ایمنی گردیده است (Reddy et al., 1987).

نتیجه‌گیری کلی

داده های این مطالعه نشان داد که که افزودن روغن کتان و ویتامین های محلول در چربی (A، D و E) بر افزایش وزن، خوراک مصرفی، دمای رکتوم، فعالیت آنتی‌اکسیدانی (مالون در آلدهید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی تام)، آنزیم‌های کبدی (آلانین آمینو ترانسفراز، آسپارتات آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز) و برخی از فراسنجه‌های خونی (پروتئین تام، کراتینین، بتا هیدروکسی بوتیریک اسید و آلبومین) در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین تأثیر معنی‌داری نداشته است، ولی سبب افزایش معنی‌دارکلسترول خون و افزایش فراسنجه‌های ایمنی همچون لنفوسیت، منوسیت و گلبول‌های سفید خون گردیده است. با توجه به یافته فوق توصیه می‌گردد که در شرایطی که حیوان در معرض استرس‌ها و عفونت قرار گرفته است، استفاده از این روغن می تواند در تقلیل عفونت و افزایش ایمنی‌زایی سیستم دفاعی بدن مؤثر واقع گردد.

References

1. Abu El-Hamd, M. A., Metwally, A. S. M., Hegazy, M. M., Ghallab, Z. R., & Elateeqy, O.A. (2019). Effect of supplementation of omega-3 fatty acids on blood parameters and semen quality of Friesian bulls. *Slovenian Veterinary Research*, *56*. https://doi.org/10.26873/SVR-817-2019
2. Agustinho, B. C., Zeoula, L. M., Santos, N. W., Machado, E., Yoshimura, E. H., Ribas, J. C., Bragatto, J. M., Stemposki, M. R., Santos, V. J. D., & Faciola, A.P. (2020). Effects of flaxseed oil and vitamin e supplementation on digestibility and milk fatty composition and antioxidant capacity in water buffaloes. *Animals*, *10*(8), 1294. https://doi.org/10.3390/ani10081294
3. Ahangarani, M. A., Dehghani, M. R., & Naserian, A. A. (2021). The effect of adding sources of fat to milk on performance, growth, health, blood and ruminal parameters of Holstein female dairy calves in the first month after birth. *Animal Production*, *23*(2),179-189. (In Pershan). https://doi.org/10.22059/jap.2020.293595.623477
4. Asadi, M., Ghoorchi, T., Toghdory, A., Rajabi Aliabadi, R., Iri Tomaj, R., & Sahneh, M. (2021). Comparison of selenium and vitamin E recommended NRC and ARC by diet and injection methods on performance, digestibility, some blood metabolites and skeletal growth indices of suckling Holstein calves. *Journal of Animal Science Research, 31*(2),57-69. (In Persian). https://doi.org/10.22034/as.2021.36647.1526
5. Bakowska-Barczak, A., Larminat, M. A., & Kolodziejczyk, P. P. (2020). The application of flax and hempseed in food, nutraceutical and personal care products. In: R. M. Kozlowski and M. M. Talzarczyk, eds. Handbook of natural fibres. Woodhead Publishing, London, UK, 557–590.

6. Bechlin, T. R., Granella, S. J., Christ, D., Coelho, S. R. M., & Viecelli, C. A. (2019). Evaluation of grain and oil quality of packaged and ozonized flaxseed. *Journal of Stored Products Research*, *83*, 311-316. https://doi.org/10.1016/j.jspr.2019.07.014
7. Beheshti Moghadam, M. H., Rezaei, M., Behgar, M., & Kermanshahi, H. (2019). Effects of gamma and electron radiation on chemical composition and some phyto-chemical properties of whole flaxseed. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, *321*, 1019-1025. https://doi.org/10.1007/s10967-019-06679-3
8. Blakely, L. P., Poindexter, M. B., Stuart, R. L., & Nelson, C. D. (2019). Supplementing pasteurized waste-milk with vitamins A, D, and E improves vitamin status of dairy calves. *The Bovine Practitioner*, 134-141. https://doi.org/10.21423/bovine-vol53no2p134-141
9. Conneely, M., Berry, D. P., Sayers, R., Murphy, J. P., Lorenz, I., Doherty, M. L., & Kennedy, E. (2013). Factors associated with the concentration of immunoglobulin G in the colostrum of dairy cows. *Animal*, *7*(11), 1824-1832. https://doi.org/10.1017/S1751731113001444
10. Delir, S., Mohammmad zadeh, H., Taghizadeh, A., & paya, H., (2020). Effects of application of vitamin-mineral supplement in milk on performances of Holstein suckling calves. *Journal of Animal Science Research*, 30(3): 105-117. (In Pershan). https://doi.org/10.22034/as.2021.38432.1557
11. Doppenberg, J., & Palmquist, D. L. (1991). Effect of dietary fat level on feed intake, growth, plasma metabolites and hormones of calves fed dry or liquid diets. *Livestock Production Science*, *29*(2-3), 151-166. https://doi.org/10.1016/0301-6226(91)90063-V
12. Dunford, N. T. (2015). Hemp and flaxseed oil: properties and applications for use in food. In *Specialty oils and fats in food and nutrition* (pp. 39-63). Woodhead Publishing. https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-376-8.00002-8
13. Elgaml, N. B., El-Hamd, A., El-Diahy, Y. M., & Elshora, M. A. (2020). Effect of Flaxseed Oil on Feeding Dairy Friesian Cows on the Fatty Acid and Chemical Composition of Milk and Physiochemical Properties of Yoghurt. *Journal of Food and Dairy Sciences*, *11*(11), 293-298. https://doi.org/10.21608/jfds.2020.130425
14. El-Hamd, A., El-Diahy, Y. M., El-Maghraby, M. M., & Elshora, M. A. (2015). Effect of flaxseed oil on digestibility, blood parameters, immuno-response and productive performance of suckling Friesian calves. *Journal of Animal and Poultry Production*, *6*(12), 755-765. https://doi.org/10.21608/jappmu.2015.52963
15. Garcia, M., Shin, J. H., Schlaefli, A., Greco, L. F., Maunsell, F. P., Santos, J. E. P., ... & Thatcher, W. W. (2015). Increasing intake of essential fatty acids from milk replacer benefits performance, immune responses, and health of preweaned Holstein calves. *Journal of Dairy Science*, *98*(1), 458-477. https://doi.org/10.3168/jds.2014-8384
16. Geraili, M., Torbati Nejad, N.M., Naserian, A.A. & Toghdory, A., (2018). The effect of flaxseed oil on the immune response of calves in heat stress conditions. *The 1st National Conference on Ruminant and Poultry Metabolic Disorders, University of Zanjan, Iran*. (In Pershan).
17. Ghorbani, H., Kazemi-Bonchenari, M., HosseinYazdi, M., & Mahjoubi, E. (2020). Effects of various fat delivery methods in starter diet on growth performance, nutrients digestibility and blood metabolites of Holstein dairy calves. *Animal Feed Science and Technology*, *262*, 114429. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114429
18. Giarola, T. M. o., Pereira, C. G., Prado, M. E. T., de Abreu, L. R., & de Resende, J. V. (2019). Effects of golden flaxseed flour on ice recrystallization in Uvaia (Eugenia pyriformis Cambess.) diet sherbet. *Food and Bioprocess Technology*, *12*, 2120-2135. https://doi.org/10.1007/s11947-019-02377-w
19. Goyal, A., Patel, A., Sihag, M. K., Shah, N., & Tanwar, B. (2018). Therapeutic potential of flaxseed. In *Therapeutic, Probiotic, and Unconventional Foods* (pp. 255-274). Academic Press. 10.1016/B978-0-12-814625-5.00013-3
20. Hill, T. M., Bateman II, H. G., Aldrich, J. M., & Schlotterbeck, R. L. (2009). Effects of changing the essential and functional fatty acid intake of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, *92*(2), 670-676. https://doi.org/10.3168/jds.2008-1368
21. Hill, T. M., VandeHaar, M. J., Sordillo, L. M., Catherman, D. R., Bateman Ii, H. G., & Schlotterbeck, R. L. (2011). Fatty acid intake alters growth and immunity in milk-fed calves. *Journal of Dairy Science*, *94*(8), 3936-3948. https://doi.org/10.3168/jds.2010-3935
22. Huuskonen, A., Khalili, H., Kiljala, J., Joki-Tokola, E., & Nousiainen, J. (2005). Effects of vegetable fats versus lard in milk replacers on feed intake, digestibility, and growth in Finnish Ayrshire bull calves. *Journal of Dairy science*, *88*(10), 3575-3581. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)73042-3
23. Ivan, M., Petit, H. V., Chiquette, J., & Wright, A. D. (2013). Rumen fermentation and microbial population in lactating dairy cows receiving diets containing oilseeds rich in C-18 fatty acids. *British Journal of Nutrition*, *109*(7), 1211-1218. https://doi.org/10.1017/S0007114512003030
24. Kadkhoday, A., Riasi, A., Alikhani, M., Dehghan-Banadaky, M., & Kowsar, R. (2017). Effects of fat sources and dietary C18: 2 to C18: 3 fatty acids ratio on growth performance, ruminal fermentation and some blood components of Holstein calves. *Livestock Science*, *204*, 71-77. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2017.08.012
25. Karimi, A., Alijoo, Y. A., Kazemi-Bonchenari, M., Mirzaei, M., & Sadri, H. (2021). Effects of supplemental fat sources and forage feeding levels on growth performance, nutrient digestibility, ruminal fermentation, and nitrogen utilization in dairy calves. *Animal*, *15*(4), 100179. https://doi.org/10.1016/j.animal.2021.100179
26. Lan, Y., Ohm, J. B., Chen, B., & Rao, J. (2020). Physicochemical properties and aroma profiles of flaxseed proteins

extracted from whole flaxseed and flaxseed meal. *Food Hydrocolloids*, *104*, 105731. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105731
27. Lashkari, S., Jensen, S. K., Hansen, C. B., Krogh, K., Theilgaard, P., Raun, B. M., & Vestergaard, M. (2021). Feeding concentrate pellets enriched by natural vitamin E keeps the plasma vitamin E above the critical level in calves post-weaning. *Livestock Science*, *253*, 104672. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2021.104672
28. McGee, M., & Earley, B. (2019). passive immunity in beef-suckler calves. *Animal*, *13*(4), 810-825. https://doi.org/10.1017/S1751731118003026
29. McGee, M., Drennan, M. J., & Caffrey, P. J. (2005). Effect of suckler cow genotype on cow serum immunoglobulin (Ig) levels, colostrum yield, composition and Ig concentration and subsequent immune status of their progeny. *Irish journal of agricultural and food research*, 173-183.
30. Mohri, M., Seifi, H. A., & Khodadadi, J. (2005). Effects of preweaning parenteral supplementation of vitamin E and selenium on hematology, serum proteins, and weight gain in dairy calves. *Comparative Clinical Pathology*, *14*, 149-154. https://doi.org/10.1007/s00580-005-0581-3
31. Moradian, M., Rahchmani, R., Banihasan, E., Gharebash, A.M. & Zeighamy, A., (2016). The effect of injection of vitamins A and E on passive transfer of immunoglobulin G and some blood parameters in calf. *Journal of Ruminant Research*, 4(2). (In Pershan). https://doi.org/10.22069/EJRR.2020.18054.1750
32. Nazir, G., Ghuman, S. P. S., Singh, J., Honparkhe, M., Ahuja, C. S., Dhaliwal, G. S., ... & Agarwal, S. K. (2013). Improvement of conception rate in postpartum flaxseed supplemented buffalo with Ovsynch+ CIDR protocol. *Animal reproduction science*, *137*(1-2), 15-22. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.11.012
33. Newkirk, R. (2015). Flax feed industry guide. *Flax Canada*, 1-24.
34. Omur, A., Kirbas, A., Aksu, E., Kandemir, F., Dorman, E., Kaynar, O., & Ucar, O. (2016). Effects of antioxidant vitamins (A, D, E) and trace elements (Cu, Mn, Se, Zn) on some metabolic and reproductive profiles in dairy cows during transition period. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, *19*(4). https://doi.org/10.1515/pjvs-2016-0088
35. Opgenorth, J., Sordillo, L. M., Gandy, J. C., & VandeHaar, M. J. (2020). Colostrum supplementation with n-3 fatty acids does not alter calf outcome on a healthy commercial farm. *Journal of dairy science*, *103*(12), 11689-11696. https://doi.org/10.3168/jds.2019-18046
36. Ramezani, M., Seifdavati, J., Seifzadeh, S., Abdibenemar, H., & Razmazar, V. (2018). The effects of conjugated linoleic acid and vitamin C on growth performance, some blood metabolites and blood cell counts of Holstein suckling calves. *Journal of Ruminant Research*, *6*(2), 101-116. https://doi.org/10.22069/EJRR.2018.14986.1634
37. Ravisankar, P., Reddy, A. A., Nagalakshmi, B., Koushik, O. S., Kumar, B. V., & Anvith, P. S. (2015). The comprehensive review on fat soluble vitamins. *IOSR Journal of Pharmacy*, *5*(11), 12-28. https://doi.org/10.13189/ijbb.2018.060103
38. Reddy, P. G., Morrill, J. L., Minocha, H. C., & Stevenson, J. S. (1987). Vitamin E is immunostimulatory in calves. *Journal of Dairy Science*, *70*(5), 993-999. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(87)80104-2
39. Rho, S. J., & Kim, Y. R. (2022). Improving solubility and stability of fat-soluble vitamins (A, D, E, and K) using large-ring cycloamylose. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, *153*, 112502. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112502
40. Sobiech, P. R. Z. E. M. Y. S. Ł. A. W., Żarczyńska, K. A. T. A. R. Z. Y. N. A., Rękawek, W. O. J. C. I. E. C. H., Snarska, A. N. N. A., Eleusizowa, A. N. A. R. A., Kowalczyk, E., & Illek, J. O. S. E. F. (2015). Effect of parenteral supplementation of selenium and vitamin E on selected blood biochemical parameters in HF cows during the transition period. *Medycyna weterynaryjna*, *71*, 683-9. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.06.006
41. Tang, Z. X., Ying, R. F., Lv, B. F., Yang, L. H., Xu, Z., Yan, L. Q., ... & Wei, Y. S. (2021). Flaxseed oil: Extraction, Health benefits and products. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, *13*(1), 1-19. https://doi.org/10.15586/qas.v13i1.783
42. Terler, G., Poier, G., Klevenhusen, F., & Zebeli, Q. (2022). Replacing concentrates with a high-quality hay in the starter feed in dairy calves: I. Effects on nutrient intake, growth performance, and blood metabolic profile. *Journal of Dairy Science*, *105*(3), 2326-2342. https://doi.org/10.3168/jds.2021-21078
43. Thiessen, D. L. (2004). Optimization of feed peas, canola and flaxseed for aqua feeds: The Canadian prairie perspective. *Avances en Nutrición Acuicola*.
44. Weiss, W. P. (2017). A 100-Year Review: From ascorbic acid to zinc—Mineral and vitamin nutrition of dairy cows. *Journal of dairy science*, *100*(12), 10045-10060. https://doi.org/10.3168/jds.2017-12935
45. Xu, H. J., Wang, L. H., Zhang, Q. Y., Jiang, X., Zhang, C. R., & Zhang, Y. G. (2021). Effects of 25-hydroxyvitamin D3 on growth performance, fecal scores, vitamin D3 metabolites, antioxidant status, and inflammatory and stress-related parameters in weaning calves. *Animal Feed Science and Technology*, *281*, 114946. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.114946
46. Zhang, X., Yin, P., Yang, L., Hang, F., Sun, L., & Liu, Y. (2017). Oil contents in flaxseeds from different origins and fatty acid compositions of flaxseed oils. *China Oils and Fats*, *42*(11), 142-146.